植 物 分 类 与 资 源 学 报 2015, **37** (4): 407~415
Plant Diversity and Resources DOI: 10.7677/ynzwyj201514152

青藏高原二种车前属植物的核型和 C-值报道*

钱 敏[1,2,3], 王广艳[4], 孟 盈[5], 杨永平[1,2,3**]
(1 中国科学院昆明植物研究所东亚植物多样性与生物地理学重点实验室, 昆明 650201; 2 中国科学院昆明植物研究所西南野生生物种质资源库, 昆明 650201; 3 中国科学院青藏高原研究所昆明部, 昆明 650201; 4 安庆师范学院生命科学学院, 安徽 安庆 246011; 5 吉首大学植物资源保护与利用重点实验室, 湖南 吉首 416000)

摘要: 对青藏高原平车前 (*Plantago depressa*) 18 个居群和大车前 (*Plantago major*) 2 个居群的染色体数目、核型和 C-值进行了研究。结果表明: 西藏亚东县和林芝县的平车前居群染色体数目为 $2n=4x=24$; 其它平车前和大车前居群的染色体数目均为 $2n=2x=12$; 染色体基数均为 $x=6$; 核型类型均为 1A 型, 核型组成和前人的研究结果不尽相同。平车前的 2C-值为首次报道, 随着倍性水平的增加 1Cx-值降低。大车前的 2C-值和前人的研究结果存在着差异。平车前和大车前不同居群的 2C-值发生了变异。流式细胞仪不能用来估测车前属植物的倍性水平。

关键词: 平车前; 大车前; 青藏高原; 核型; C-值
中图分类号: Q 942 **文献标志码**: A **文章编号**: 2095-0845(2015)04-407-09

Karyotypes and C-values of Two *Plantago* Species from the Qinghai-Tibet Plateau, China*

QIAN Min[1,2,3], WANG Guang-yan[4], MENG Ying[5], YANG Yong-ping[1,2,3**]
(1 *Key Laboratory for Plant Diversity and Biogeography of East Asia*, *Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650201, China; 2 *Germplasm Bank of Wild Species in Southwest China*, *Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650201, China; 3 *Institute of Tibetan Plateau Research at Kunming*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming, 650201, China; 4 *School of Life Sciences*, *Anqing Normal University*, Anqing, Anhui 246011, China; 5 *Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Utilization*, *Jishou University*, Jishou, Hunan 426000, China)

Abstract: The chromosome numbers, karyotypes and C-values of 18 populations of *Plantago depressa* and 2 populations of *Plantago major* from the Qinghai-Tibet Plateau, China, were reported in the present study. The results were as follows: the chromosome numbers of *P. depressa* populations from Yadong County and Nyingchi County of Tibetan Autonomous Region (TAR) were $2n=4x=24$, other populations of *P. depressa* and *P. major* were $2n=2x=12$, and the basic chromosome number of all populations was $x=6$. All karyotype types were 1A, and the karyotype constitutions were not completely consistent with previous reported results. The 2C-value of *P. depressa* was reported for the first time, and the 1Cx-vaule tended to decrease with increasing ploidy levels. Meanwhile, the 2C-value of *P. major* was not identical with previous existing results. The results showed that the variation of 2C-value occurred at the inter-population level of *P. depressa* and *P. major*, also flow cytometry couldn't be used to estimate the ploidy of the genus *Plantago* Linn.

Key words: *Plantago depressa*; *Plantago major*; Qinghai-Tibet Plateau; Karyotype; C-value

---

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (41271058)
** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: yangyp@mail.kib.ac.cn
收稿日期: 2014-11-17, 2015-01-08 接受发表
作者简介: 钱敏 (1987-) 女, 研究实习员, 主要从事植物细胞和分子生物学研究。E-mail: qianmin@mail.kib.ac.cn

车前属（*Plantago* Linn.）隶属于车前科（Plantaginaceae），全世界约200种，广泛分布于世界温带及热带地区。我国有22种，其中3种为我国特有，4种为引种栽培（Li等，2011）。平车前（*P. depressa* Willd.）和大车前（*P. major* Linn.）属于典型的杂草（郭水良，2002），分布于巴基斯坦、印度、中国的西藏、云南、新疆、安徽、河北、山东等世界大部分地区，生于草甸、河滩、山坡路旁、荒地或田边等，平车前海拔0~4 500 m，大车前海拔0~2 800 m（Li等，2011）。Rahn（1996）将该车前属分为以下6个亚属：subgen. *Plantago* L.，subgen. *Coronopus* Rahn，subgen. *Albicans* Rahn，subgen. *Psyllium* Juss，subgen. *Littorella* Rahn和subgen. *Bougueria* Rahn，其中，车前亚属（subgen. *Plantago* L.）被分为sect. *Micropsyllium*，sect. *Mesembrynia*，sect. *Virginica*，sect. *Oliganthos* 和sect. *Plantago* 五个组。平车前和大车前均属于车前亚属，但其所属分组不同，平车前属于sect. *Mesembrynia*，大车前属于sect. *Plantago*（Ishikawa等，2009）。

近年来，一些学者已对部分车前属植物的染色体进行了报道，体细胞的染色体数目分别为 $2n=8$，10，12，16，20，24，30，36，48，60，72，96（Rahn，1957；Badr和EI-Kholy，1987；Sharma等，1992；Ishikawa等，2009；Mohsenzadeh等，2010；Murray等，2010）；染色体基数为 $x=4$，5，6，其中 $x=6$ 较为原始，$x=4$，5由其衍生进化而来（Bala和Gupta，2011）。由此可见，车前属具有多种倍性水平和染色体基数。相对于丰富的车前属植物种类，车前属的染色体数目报道较少。从诸多研究结果看，部分车前属种类的染色体数目不尽相同，例如，平车前已报道的染色体数目为 $2n=12$，24，36，大车前的染色体数目为 $2n=12$，24（McCullagh，1934；徐炳声等，1987；Bala和Gupta，2011）。

Temsch等（2010）报道了大车前的2C-值为1.424 pg，Wong和Murray（2012）报道了大车前的2C-值为1.59 pg，而Pramanik和Raychaudhuri（1997）总结了二倍体大车前的4C-值分别为3.82 pg和3.54 pg，因此大车前种内的2C-值存在差异。但平车前的基因组大小至今尚未见报道。

本研究对青藏高原平车前和大车前2种植物共20个居群进行了核型分析及DNA含量测定，与前人的研究结果进行了比较研究，为今后对本属植物在青藏高原的起源和演化研究奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

研究用的DNA含量测定以水稻（*Oryza sativa* L.）（品种为日本晴，1C=0.43 pg DNA）为内标，实验材料取自中国科学院昆明植物研究所，选取2个月左右的幼嫩叶片。平车前和大车前的采集地点见表1，凭证标本藏于中国科学院昆明植物研究所标本馆（KUN），实验材料为苗龄10天左右的幼苗。

1.2 染色体计数和核型分析

种子于24 ℃恒温箱中发芽，待根尖生长至0.5~1.5 cm时，取下根尖，在室温条件下置于3 $mmol \cdot L^{-1}$ 的8-羟基喹啉溶液中预处理4~5 h，蒸馏水冲洗根尖，用卡诺氏固定液（冰醋酸∶乙醇=1∶3）于4 ℃条件下固定1 h，固定后的材料经水洗，用解离液（1 $mol \cdot L^{-1}$ HCL∶45%冰醋酸=1∶1）于60 ℃水浴中解离1~2 min，1%醋酸地衣红染色。常规方法压片镜检。经镜检挑选染色体分散良好的细胞，中性树胶封片，拍照。统计至少6条根尖的30~50个细胞，以其中85%以上细胞具有的恒定一致的染色体数作为该材料的染色体数。

染色体类型根据Levan等（1964）的方法分析，核型不对称性按照Stebbins（1971）的分类标准。

1.3 C-值的估测

种子于24 ℃恒温箱中培养，待其发芽后，取新鲜幼苗（0.5 g）于培养皿中，加入1 000 μL的WPB裂解液（20 $mmol \cdot L^{-1}$ Tris·HCl，4 $mmol \cdot L^{-1}$ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$，2 $mmol \cdot L^{-1}$ EDTA $Na_2 \cdot 2H_2O$，86 $mmol \cdot L^{-1}$ NaCl，10 $mmol \cdot L^{-1}$ 焦亚硫酸钠，1% PVP-10，1% Triton X-100，pH7.5）（田新民等，2011），用锋利的刀片一次性快速切碎，整个过程材料须浸没在裂解液中，以便更好地游离细胞核，完全切碎后再加入1 000 μL的WPB裂解液。用Partec配置的30 μm的滤网过滤至上样管中，获得细胞核悬液。采用同样方法获得水稻的细胞核悬液。取适量待测样品和水稻的细胞核悬液混匀，获得混合细胞核悬液，加入150 μL的PI染料（含500 $\mu g \cdot ml^{-1}$ PI，50 $\mu g \cdot ml^{-1}$ RNase A），避光，染色30 min。利用德国Partec流式细胞仪（CyFlow Space-3000）进行样品的检测，蓝光488 nm，每组样品收集5 000~10 000个颗粒。使用Flow-Max 2.82进行数据分析。本研究中，CV值小于5%被认为是可靠数据。荧光信号的强度代表了其核内物质的浓度，即荧光强度与细胞核的DNA含量成正比（刘祎等，

表 1　材料采集信息表

Table 1　Samples and their localities

编号 No.	种名 Taxon	采集地 Locality	纬度 Latitude	经度 Longitude	海拔 Altitude/m	凭证标本号 Vouchers
1	*Plantago depressa* Willd.	西藏浪卡子	N29°11′10.03″	E90°36′00.63″	4453	Yangyp-Q-4171
2		西藏浪卡子	N29°11′39.75″	E90°37′24.30″	4761	Yangyp-Q-5035
3		西藏江孜	N28°50′52.97″	E90°03′20.73″	4506	Yangyp-Q-4272
4		西藏亚东	N27°26′15.95″	E88°53′51.56″	3634	Yangyp-Q-4291
5		西藏聂拉木	N28°08′38.48″	E85°58′17.24″	3794	Yangyp-Q-4312
6		西藏定日	N28°21′55.07″	E86°56′53.08″	4308	Yangyp-Q-5115
7		西藏拉萨	N29°40′03.62″	E91°06′06.09″	3650	Yangyp-Q-4195
8		西藏林周	N30°05′24.68″	E91°16′41.88″	4347	Yangyp-Q-4150
9		西藏曲水	N29°16′07.64″	E90°24′28.10″	3689	Yangyp-Q-4366
10		西藏当雄	N31°33′12.52″	E91°25′12.52″	4515	Yangyp-Q-3251
11		西藏桑日	N29°11′45.36″	E92°01′32.79″	3590	Yangyp-Q-4212
12		西藏扎囊	N29°16′34.90″	E91°11′45.49″	3559	Yangyp-Q-5080
13		西藏林芝	N29°33′40.15″	E94°33′49.21″	3783	Yangyp-Q-4099
14		西藏工布江达	N29°52′02.89″	E92°40′18.55″	4000	Yangyp-Q-4130
15		西藏昌都	N31°21′55.47″	E97°27′30.02″	3703	Yangyp-Q-3106
16		西藏昌都	N31°03′34.92″	E97°12′44.01″	3199	Yangyp-Q-3135
17		四川甘孜	N31°47′18.35″	E99°30′00.03″	3746	Yangyp-Q-3059
18		四川新龙	N31°21′34.07″	E100°13′01.38″	3182	Yangyp-Q-3011
19	*Plantago major* Linn.	西藏日喀则	N29°20′31.95″	E89°19′33.28″	3805	Yangyp-Q-4359
20		西藏桑日	N29°11′45.36″	E92°01′32.79″	3590	Yangyp-Q-4219

2011）。待测样本的核 DNA 的绝对含量（pg 或 Mb，1 pg =978 Mb），计算公式如下（田新民等，2011）：

待测样本核 DNA 含量=参照样本核 DNA 含量×待测样本 G0 或 G1 峰荧光均值/参照样本 G0 或 G1 峰荧光均值

2　结果

平车前 18 个居群和大车前 2 个居群的体细胞有丝分裂中期细胞图如图 1。西藏亚东县和林芝县的平车前居群染色体数目均为 $2n=4x=24$，为四倍体；其它平车前和大车前居群的染色体数目均为 $2n=2x=12$，均属二倍体，所有居群的染色体基数均为 $x=6$。染色体图如图 2，西藏亚东平车前居群（凭证标本号 Yangyp-Q-4291）着丝点不够清晰、染色体多重叠，故未分析其核型。平车前和大车前居群都由正中部着丝粒（M）、中部着丝粒（m）或近中部着丝粒（sm）染色体组成，核型类型均为 1A 型。不同居群的核 DNA 含量和染色体参数见表 2，二倍体平车前 16 个居群的 2C-值变化范围为 1.50 pg~1.66 pg，四倍体平车前 2 个居群的 2C-值分别为 2.98 pg 和 2.86 pg，大车前 2 个居群的 2C-值分别为 1.42 pg 和 1.56 pg。图 3 中 A 和 B 分别显示出了西藏浪卡子二倍体平车前居群 1 和西藏亚东四倍体平车前居群的流式直方图，均以水稻为内标。核型分析结果如下：

2.1　平车前西藏浪卡子居群 1

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=10m$（4SAT）+2sm，核型类型为 1A（图 1：1；2：A；表 2），其染色体长度变化范围为 1.84~2.81 μm，臂比值为 1.53（表 2）。

2.2　平车前西藏浪卡子居群 2

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=12m$，核型类型为 1A（图 1：2；2：B；表 2），其染色体长度变化范围为 1.56~2.19 μm，臂比值为 1.4（表 2）。

2.3　平车前西藏江孜居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=10m+2sm$（1SAT），核型类型为 1A（图 1：3；2：C；表 2），其染色体长度变化范围为 1.72~2.56 μm，臂比值为 1.49（表 2）。

2.4　平车前西藏聂拉木居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+10m$（1SAT），核型类型为 1A（图 1：5；

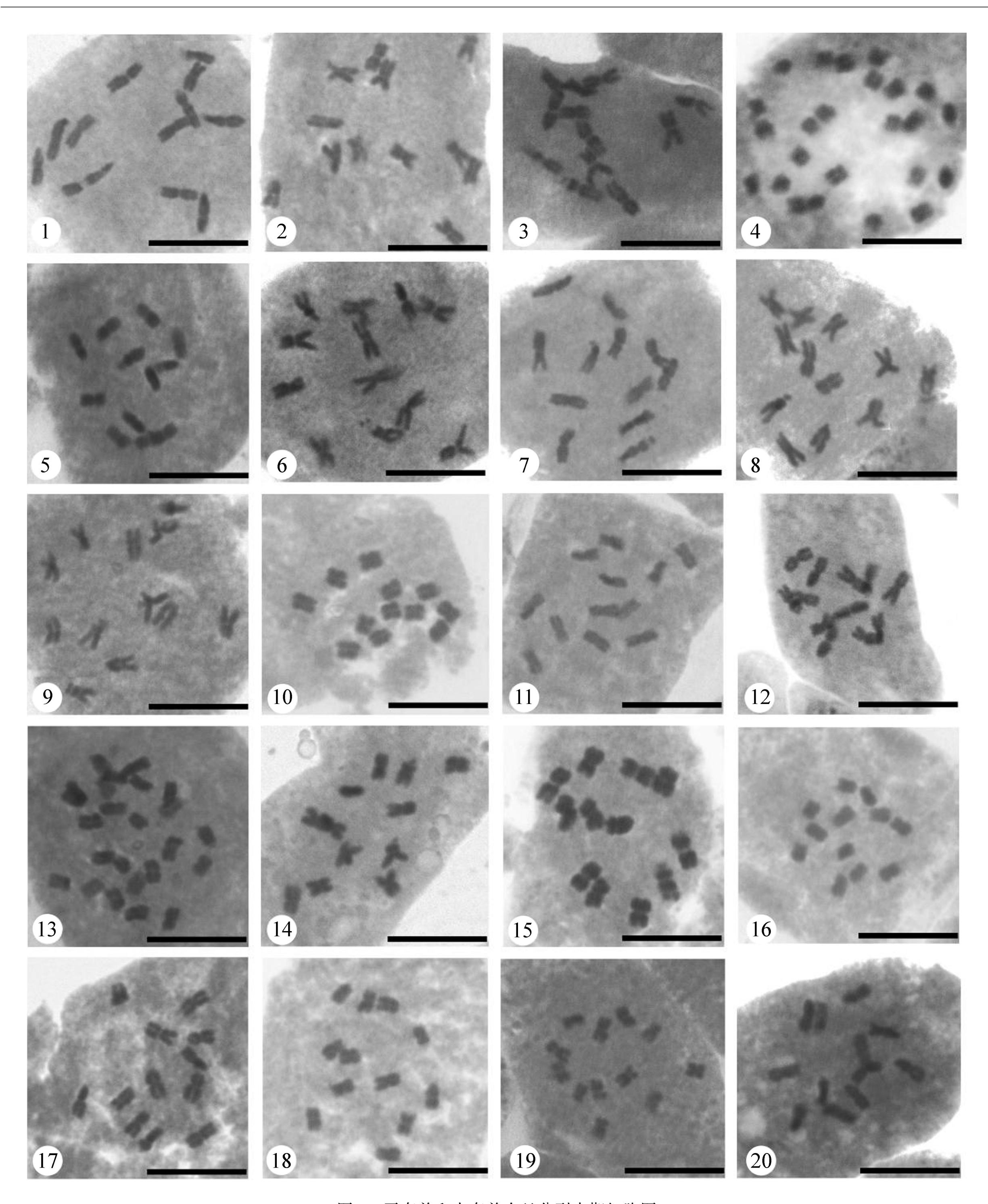


图1 平车前和大车前有丝分裂中期细胞图

1~18：平车前；1. 西藏浪卡子居群1；2. 西藏浪卡子居群2；3. 西藏江孜；4. 西藏亚东；5. 西藏聂拉木；6. 西藏定日；7. 西藏拉萨；8. 西藏林周；9. 西藏曲水；10. 西藏当雄；11. 西藏桑日；12. 西藏扎囊；13. 西藏林芝；14. 西藏工布江达；15. 西藏昌都居群1；16. 西藏昌都居群2；17. 四川甘孜；18. 四川新龙；19~20：大车前；19. 西藏日喀则；20. 西藏桑日。比例尺=5 μm

Fig. 1 Mitotic nuclei and metaphase chromosomes of *P. depressa* and *P. major*

1–18：*P. depressa*；1. Nagarzê-1 in Tibetan Autonomous Region (TAR)；2. Nagarzê-2 (TAR)；3. Gyangzê (TAR)；4. Yadong (TAR)；5. Nielamu (TAR)；6. Dingri (TAR)；7. Lhasa (TAR)；8. Lhünzhub (TAR)；9. Qü xü (TAR)；10. Damxung (TAR)；11. Sangri (TAR)；12. Zhanang (TAR)；13. Nyingchi (TAR)；14. Gongbo'gyamda (TAR)；15. Qamdo-1 (TAR)；16. Qamdo-2 (TAR)；17. Ganzi (Sichuan)；18. Xinlong (Sichuan)；19~20：*P. major*；19. Shigatse (TAR)；20. Sangri (TAR). Scale bar=5 μm

2：D；表 2），其染色体长度变化范围为 1.41～1.88 μm，臂比值为 1.33（表 2）。

2.5　平车前西藏定日居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=9m$（1SAT）+3sm（3SAT），核型类型为 1A（图 1：6；2：E；表 2），其染色体长度变化范围为 1.72～2.72 μm，臂比值为 1.58（表 2）。

2.6　平车前西藏拉萨居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+8m+2sm$（2SAT），核型类型为 1A（图 1：7；2：F；表 2），其染色体长度变化范围为 1.81～2.63 μm，臂比值为 1.45（表 2）。

2.7　平车前西藏林周居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=1M+9m+2sm$（2SAT），核型类型为 1A（图 1：8；2：G；表 2），其染色体长度变化范围为 1.47～2.4 μm，臂比值为 1.63（表 2）。

2.8　平车前西藏曲水居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+8m+2sm$（2SAT），核型类型为 1A（图 1：9；2：H；表 2），其染色体长度变化范围为 1.53～2.03 μm，臂比值为 1.33（表 2）。

2.9　平车前西藏当雄居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+10m$，核型类型为 1A（图 1：10；2：I；表 2），其染色体长度变化范围为 1.25～1.81 μm，臂比值为 1.45（表 2）。

2.10　平车前西藏桑日居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=1M+11m$（2SAT），核型类型为 1A（图 1：11；2：J；表 2），其染色体长度变化范围为 1.56～1.91 μm，臂比值为 1.22（表 2）。

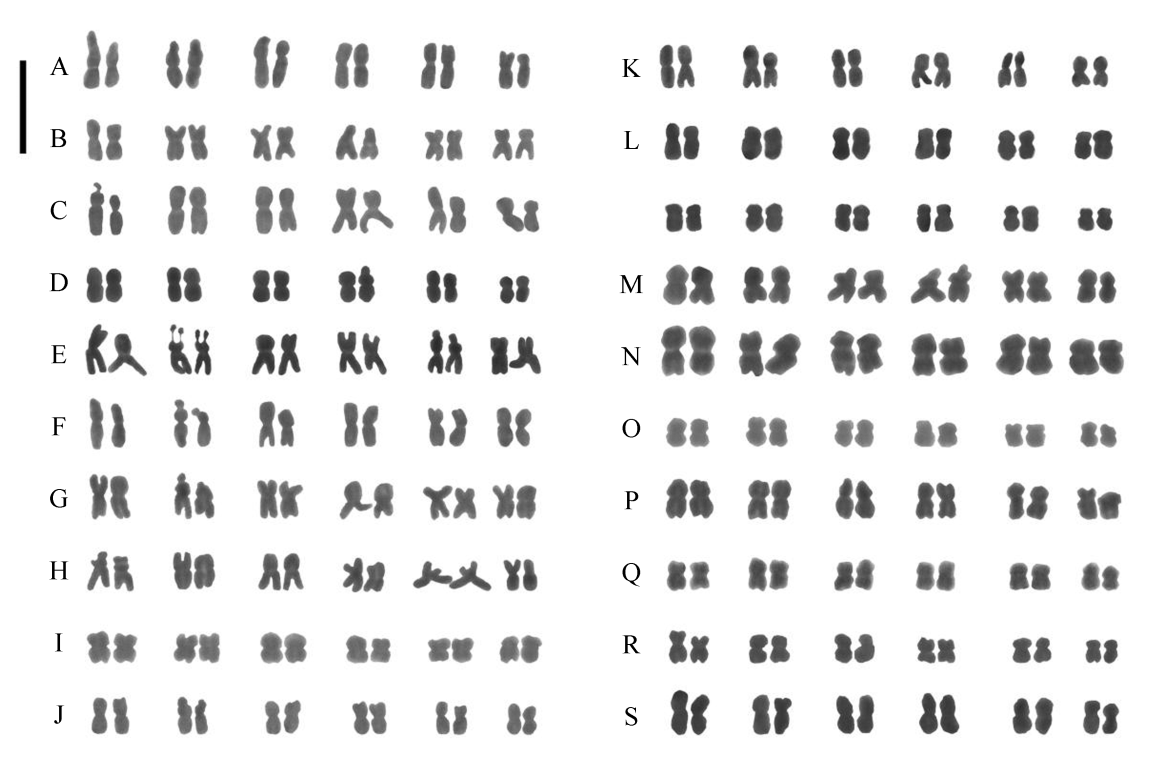


图 2　平车前和大车前的染色体图

A～Q：平车前；A. 西藏浪卡子居群 1；B. 西藏浪卡子居群 2；C. 西藏江孜；D. 西藏聂拉木；E. 西藏定日；F. 西藏拉萨；G. 西藏林周；H. 西藏曲水；I. 西藏当雄；J. 西藏桑日；K. 西藏扎囊；L. 西藏林芝；M. 西藏工布江达；N. 西藏昌都居群 1；O. 西藏昌都居群 2；P. 四川甘孜；Q. 四川新龙；R～S：大车前；R. 西藏日喀则；S. 西藏桑日。比例尺＝5 μm

Fig. 2　Ideograms of somatic metaphase chromosomes of *P. depressa* and *P. major*

A–Q：*P. depressa*；A. Nagarzê-1（TAR）；B. Nagarzê-2（TAR）；C. Gyangzê（TAR）；D. Nielamu（TAR）；E. Dingri（TAR）；F. Lhasa（TAR）；G. Lhünzhub（TAR）；H. Qü xü（TAR）；I. Damxung（TAR）；J. Sangri（TAR）；K. Zhanang（TAR）；L. Nyingchi（TAR）；M. Gongbo'gyamda（TAR）；N. Qamdo-1（TAR）；O. Qamdo-2（TAR）；P. Ganzi（Sichuan）；Q. Xinlong（Sichuan）；R–S：*P. major*；R. Shigatse（TAR）；S. Sangri（TAR）. Scale bar＝5 μm

表2 平车前和大车前不同居群的核 DNA 含量和染色体参数

Table 2 Nuclear DNA amount and chromosomal data of *P. depressa* and *P. major* in different populations

No.	Genome sizes		Karyotype characteristics						
	2C/pg	1Cx/pg	SC-LC/μm	LC/SC	p(±*SD*)	q(±*SD*)	Type	Karyotype formula	Figs
1	1.66	0.83	1.84-2.81	1.53	0.98±0.19	1.26±0.16	1A	2*n*=2*x*=12=10m(4SAT)+2sm	1: 1; 2: A
2	1.5	0.75	1.56-2.19	1.4	0.83±0.13	0.96±0.09	1A	2*n*=2*x*=12=12m	1: 2; 2: B
3	1.52	0.76	1.72-2.56	1.49	1±0.17	1.3±0.17	1A	2*n*=2*x*=12=10m+2sm(1SAT)	1: 3; 2: C
4	2.98	0.745							1: 4
5	1.62	0.81	1.41-1.88	1.33	0.78±0.11	0.9±0.06	1A	2*n*=2*x*=12=2M+10m(1SAT)	1: 5; 2: D
6	1.5	0.75	1.72-2.72	1.58	0.92±0.21	1.23±0.13	1A	2*n*=2*x*=12=9m(1SAT)+3sm(3SAT)	1: 6; 2: E
7	1.58	0.79	1.81-2.63	1.45	0.98±0.18	1.17±0.13	1A	2*n*=2*x*=12=2M+8m+2sm(2SAT)	1: 7; 2: F
8	1.5	0.75	1.47-2.4	1.63	0.88±0.15	1.08±0.16	1A	2*n*=2*x*=12=1M+9m+2sm(2SAT)	1: 8; 2: G
9	1.56	0.78	1.53-2.03	1.33	0.8±0.12	1.04±0.14	1A	2*n*=2*x*=12=2M+8m+2sm(2SAT)	1: 9; 2: H
10	1.56	0.78	1.25-1.81	1.45	0.67±0.09	0.81±0.13	1A	2*n*=2*x*=12=2M+10m	1: 10; 2: I
11	1.5	0.75	1.56-1.91	1.22	0.78±0.12	0.93±0.03	1A	2*n*=2*x*=12=1M+11m(2SAT)	1: 11; 2: J
12	1.56	0.78	1.69-2.34	1.38	0.95±0.09	1.04±0.14	1A	2*n*=2*x*=12=2M+10m	1: 12; 2: K
13	2.86	0.715	1.25-1.97	1.58	0.65±0.09	0.94±0.1	1A	2*n*=4*x*=24=22m+2sm	1: 13; 2: L
14	1.58	0.79	1.56-2.13	1.37	0.82±0.12	0.98±0.08	1A	2*n*=2*x*=12=12m	1: 14; 2: M
15	1.6	0.8	1.69-2.59	1.53	0.99±0.16	1.21±0.13	1A	2*n*=2*x*=12=12m	1: 15; 2: N
16	1.64	0.82	1.16-1.63	1.41	0.6±0.1	0.82±0.09	1A	2*n*=2*x*=12=10m+2sm	1: 16; 2: O
17	1.58	0.79	1.44-2.19	1.52	0.87±0.12	1.04±0.12	1A	2*n*=2*x*=12=1M+11m	1: 17; 2: P
18	1.56	0.78	1.25-1.72	1.38	0.74±0.06	0.87±0.1	1A	2*n*=2*x*=12=12m	1: 18; 2: Q
19	1.42	0.71	1.25-1.72	1.38	0.63±0.05	0.78±0.13	1A	2*n*=2*x*=12=2M+10m	1: 19; 2: R
20	1.56	0.78	1.66-2.34	1.41	0.9±0.11	1.08±0.12	1A	2*n*=2*x*=12=12m	1: 20; 2: S

注：No. 材料编号；SC. 最短染色体长度；LC. 最长染色体长度；p. 短臂的平均长度（μm）；q. 长臂的平均长度（μm）；SD. 标准差；Type. 核型类型（Stebbins，1971）；M. 正中部着丝点；m. 中部着丝点；sm. 近中部着丝点

Note: No. accession; SC. the shortest chromosome length; LC. the longest chromosome length; p. mean length of short arm; q. mean length of long arm; SD. Standard deviation; Type. the classification of karyotypes in relation to their degree of asymmetry according to Stebbins (1971); M/m. metacentric; sm. Submetacentric

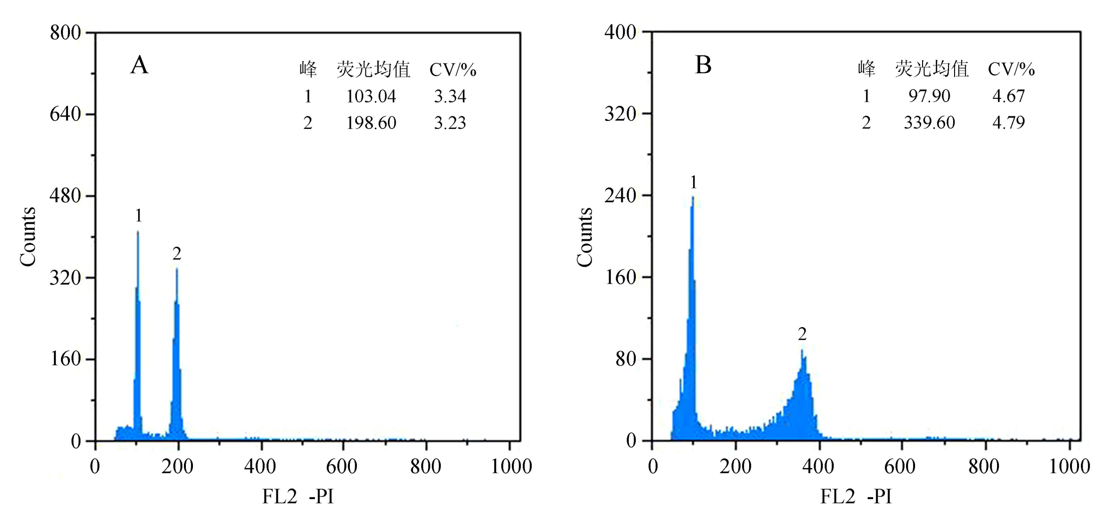


图3 平车前2个居群的流式直方图

横坐标：荧光强度；纵坐标：细胞核数目；A：峰1为内标水稻，峰2为西藏浪卡子居群1（$2n=2x=12$）；B：峰1为内标水稻，峰2为西藏亚东居群（$2n=4x=24$）

Fig. 3 Flow-cytometric histograms of PI-stained nuclei of 2 populations of *P. depressa*

The abscissa is the fluorescence intensity, the ordinate is the number of nuclei, A: 1 and B: 1 indicate *Oryza sativa* as a internal standard; A: 2 indicates the population 1 of Nagarzê (TAR) ($2n=2x=12$); B: 2 indicates the population of Yadong (TAR) ($2n=4x=24$)

2.11　平车前西藏扎囊居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+10m$，核型类型为 1A（图 1：12；2：K；表 2），其染色体长度变化范围为 1.69～2.34 μm，臂比值为 1.38（表 2）。

2.12　平车前西藏林芝居群

染色体数目为 $2n=24$，核型公式为 $2n=4x=24=22m+2sm$，核型类型为 1A（图 1：13；2：L；表 2），其染色体长度变化范围为 1.25～1.97 μm，臂比值为 1.58（表 2）。

2.13　平车前西藏工布江达居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=12m$，核型类型为 1A（图 1：14；2：M；表 2），其染色体长度变化范围为 1.56～2.13 μm，臂比值为 1.37（表 2）。

2.14　平车前西藏昌都居群 1

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=12m$，核型类型为 1A（图 1：15；2：N；表 2），其染色体长度变化范围为 1.69～2.59 μm，臂比值为 1.53（表 2）。

2.15　平车前西藏昌都居群 2

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=10m+2sm$，核型类型为 1A（图 1：16；2：O；表 2），其染色体长度变化范围为 1.16～1.63 μm，臂比值为 1.41（表 2）。

2.16　平车前四川甘孜居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=1M+11m$，核型类型为 1A（图 1：17；2：P；表 2），其染色体长度变化范围为 1.44～2.19 μm，臂比值为 1.52（表 2）。

2.17　平车前四川新龙居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=12m$，核型类型为 1A（图 1：18；2：Q；表 2），其染色体长度变化范围为 1.25～1.72 μm，臂比值为 1.38（表 2）。

2.18　大车前西藏日喀则居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=2M+10m$，核型类型为 1A（图 1：19；2：R；表 2），其染色体长度变化范围为 1.25～1.72 μm，臂比值为 1.38（表 2）。

2.19　大车前西藏桑日居群

染色体数目为 $2n=12$，核型公式为 $2n=2x=12=12m$，核型类型为 1A（图 1：20；2：S；表 2），其染色体长度变化范围为 1.66～2.34 μm，臂比值为 1.41（表 2）。

3　讨论

本文报道了来自青藏高原车前属 2 个种 20 个居群的染色体数目、核型和 C-值。结果表明：平车前居群的染色体数目为 $2n=12$，24，大车前居群的染色体数目均为 $2n=12$，所有居群染色体基数均为 $x=6$。所有居群的核型类型均为 1A 型，与徐炳声等（1987）的结果一致，上述数据表明平车前和大车前的染色体均属于比较对称的核型。McCullgh（1934）报道了平车前和大车前的核型公式均为 $2n=12=2m+2sm+6st+2t$（SAT）。徐炳声等（1987）报道了两种的核型公式均为 $2n=12=12m$。Jain（1978）报道了大车前的核型公式为 $2n=12=2m+6sm+2sm$（SAT）$+2st$。Sharma 等（1992）报道了大车前的核型公式为 $2n=12=8SM+4SM$。本研究中，平车前和大车前染色体主要由正中部、中部或近中部着丝点染色体组成，与前人的研究结果不一致。Darlington（1937）、Lewis 和 John（1963）指出染色体可以通过重排，特别是易位发生进化。El-Bakatoushi 和 Richards（2005）提出染色体重排可能是大车前进化的原因之一。由此我们推测平车前和大车前可能存在着染色体重排现象。

本研究中，平车前的 2C-值属首次报道，二倍体平车前 16 个居群的 2C-值变化范围为 1.50 pg～1.66 pg，1Cx-值为 0.75 pg～0.83 pg；四倍体平车前 2 个居群的 2C-值分别为 2.98 pg 和 2.86 pg，1Cx-值分别为 0.745 pg 和 0.715 pg。以上结果表明平车前随着倍性水平的增加，其 1Cx-值降低。Leitch 和 Bennett（2004）指出，在植物中，随着多倍体的形成，DNA 存在着流失现象，即"基因组裁员"，该现象在多种植物中已见报道，如 *Hieracium bauhinii* Besser（Suda 等，2007）、*Ranunculus parnassifolius* L.（Cires 等，2010）、*Cardamine yezoensis* Maxim.（Marhold 等，2010）等。本研究中大车前 2 个居群的 2C-值分别为 1.42 pg 和 1.56 pg；Temsch 等（2010）报道大车前的 2C-值为 1.424 pg；Wong 和 Murray（2012）报道大车前的 2C-值为 1.59 pg；而 Pramanik 和

Raychaudhuri（1997）总结了二倍体大车前的 4C-值为 3.82 pg 和 3.54 pg，即 2C-值为 1.91 pg 和 1.77 pg。由此可以看出，不同居群的 2C-值存在着差异，这可能是由于人为因素引起的，例如，仪器或方法的误差（Greilhuber 和 Obermayer，1997；Greilhuber，1998，2005），也可能是由于次级代谢产物的干扰（Greilhuber，1986，1988；Walker 等，2006），还可能是实验室测定技术的差异（Doležel 等，1998），也可能是材料本身的异质性（Murray，2005）等。值得注意的是，大车前不同居群 2C-值的差异也可能与其广泛的地理分布相关，不同居群其生境的异质性差异较大，植物为适应这种不同的生境而改变其核 DNA 含量。Rees 和 Jones（1972）曾提出高等植物物种的进化和分歧常常和核 DNA 含量的变化密切相关，从而支持上述结论。

本研究中，染色体制片检测结果发现，采自西藏林芝地区林芝县和日喀则地区亚东县的平车前居群均是四倍体，其它平车前和大车前居群均是二倍体。2C-值鉴定结果发现（表 2），四倍体平车前居群的 2C-值约是二倍体平车前居群和二倍体大车前居群 2C-值的 2 倍，流式细胞术检测结果与染色体制片检测结果一致。而 Wong 和 Murray（2012）报道了 *P. unibracteata* Rahn（$2n=12x$）的 2C-值为 17.57 pg，*P. udicola* Meudt（$2n=16x$）的 2C-值为 17.95 pg，后者比前者多了 24 条染色体，但 2C-值并无差异；*P. lanigera* Hook. f.（$2n=2x$）和 *P. major* L.（$2n=2x$）的 2C-值分别为 3.91 pg 和 1.59 pg，*P. unibracteata* 的 2C-值分别是 *P. lanigera* 和 *P. major* 的 4.49 倍和 11.05 倍，*P. udicola* 的 2C-值分别是它们的 4.59 倍和 11.29 倍，由此可见，上述种间 2C-值和倍性之间并无明显的关系。因此，流式细胞仪不能用来估测车前属植物的倍性水平。

致谢 中国科学院昆明植物研究所陈家辉博士在种子采集及标本鉴定方面提供帮助；张春玲女士指导染色体实验工作。

［参 考 文 献］

徐炳声，葛传吉，李岩坤，1987. 三种药用车前的染色体数目和核型的研究［J］. 广西植物，**7**（3）：195—199

Badr A，EI-Kholy MA，1987. Chromosomal studies in the Egyptian flora II. Karyotype studies in the genus *Plantago* L.［J］. *Cytologia*，**52**：725—731

Bala S，Gupta RC，2011. Chromosomal diversity in some species of *Plantago*（Plantaginaceae）from North India［J］. *International Journal of Botany*，**7**（1）：82—89

Cires E，Cuesta C，Revilla MÁ，*et al*，2010. Intraspecific genome size variation and morphological differentiation of *Ranunculus parnassifolius*（Ranunculaceae），an Alpine－Pyrenean－Cantabrian polyploid group［J］. *Biological Journal of the Linnean Society*，**101**：251—271

Darlington CD，1937. *Recent Advances in Cytology*，2nd ed.［M］. Philadelphia，PA，USA：P. Blakiston's Son

Doležel J，Greilhuber J，Lucretti S *et al*，1998. Plant genome size estimation by flow cytometry：inter-laboratory comparison［J］. *Annals of Botany*，**82**（Supplement A）：17—26

El-Bakatoushi R，Richards AJ，2005. Karyological variation between two taxa of *Plantago major* L.，ssp. *major* and ssp. Intermedia（Gilib.）Lange［J］. *Cytologia*，**70**（4）：365—372

Guo SL（郭水良），2002. Advances in ecology and evolutionary biology of the genus *Plantago*［J］. *Chinese Bulletin of Botany*（植物学通报），**19**（5）：567—574

Greilhuber J，1986. Severely distorted Feulgen-DNA amounts in *Pinus*（Coniferophytina）after nonadditive fixations as a result of meristematic self-tanning with vacuole contents［J］. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*，**28**（3）：409—415

Greilhuber J，1988. "Self-tanning"—a new and important source of stoichiometric error in cytophotometric determination of nuclear DNA content in plants［J］. *Plant Systematics and Evolution*，1988，**158**（2-4）：87—96

Greilhuber J，1998. Intraspecific variation in genome size：a critical reassessment［J］. *Annals of Botany*，**82**（Supplement A）：27—35

Greilhuber J，2005. Intraspecific variation in genome size in angiosperms：identifying its existence［J］. *Annals of Botany*，**95**（1）：91—98

Greilhuber J，Obermayer R，1997. Genome size and maturity group in *Glycine max*（soybean）［J］. *Heredity*，**78**（5）：547—551

Ishikawa N，Yokoyama J，Tsukaya H，2009. Molecular evidence of reticulate evolution in the subgenus *Plantago*（Plantaginaceae）［J］. *American Journal of Botany*，**96**（9）：1627—1635

Jain KK，1978. Cytology of the polymorphic *Plantago major* Linn［J］. *Cytologia*，**43**：345—349

Leitch IJ，Bennett MD，2004. Genome downsizing in polyploid plants［J］. *Biological Journal of the Linnean Society*，**82**：651—663

Levan A，Fredga K，Sandberg AA，1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes［J］. *Hereditas*，**52**（2）：201—220

Lewis KR，John B，1963. *Chromosome Marker*［M］. London：

Churchill

Li ZY, Wei L, Hoggard RK, 2011. Plantaginaceae [A] // Wu ZY, Raven PH eds., *Flora of China* [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, **19**: 495—503

Liu Y (刘祎), Liu ZH (刘争辉), He X (何旭) *et al*, 2011. DNA content and ploidy determination of ryegrass (*Lolium perenne*) by flow cytometry [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), **27** (9): 212—215

Marhold K, Kudoh H, Pak JH *et al*, 2010. Cytotype diversity and genome size variation in eastern Asian polyploid *Cardamine* (Brassicaceae) species [J]. *Annals of Botany*, **105** (2): 249—264

McCullagh D, 1934. Chromosome and chromosome morphology in Plantaginaceae I [J]. *Genetica*, **16** (1-2): 1—44

Mohsenzadeh S, Nazeri V, Mirtadzadini M, 2010. A new species of *Plantago* (Plantaginaceae) from Iran [J]. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, **20** (3): 307—310

Murray BG, 2005. When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? [J]. *Annals of Botany*, **95** (1): 119—125

Murray BG, Meudt HM, Tay ML *et al*, 2010. New chromosome counts in New Zealand species of *Plantago* (Plantaginaceae) [J]. *New Zealand Journal of Botany*, **48** (3-4): 197—204

Pramanik S, Raychaudhuri SS, 1997. DNA content, chromosome composition, and isozyme patterns in *Plantago* L [J]. *The Botanical Review*, **63** (2): 124—139

Rahn K, 1957. Chromosome numbers in *Plantago* [J]. *Botanisk Tiddskrift*, **53**: 369—378

Rahn K, 1996. A phylogenetic study of the Plantaginaceae [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **120**: 145—198

Rees H, Jones RN, 1972. The origin of the wide species variation in nuclear DNA content [J]. *International Review of Cytology*, **32**: 53—92

Sharma N, Koul P, Koul AK, 1992. Genetic systems of six species of *Plantago* (Plantaginaceae) [J]. *Plant Systematics and Evolution*, **181**: 1—9

Stebbins GL, 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants* [M]. London: Edward Arnold Ltd

Suda J, Krahulcová A, Trávníček P *et al*, 2007. Genome size variation and species relationships in *Hieracium* sub-genus *Pilosella* (Asteraceae) as inferred by flow cytometry [J]. *Annals of Botany*, **100** (6): 1323—1335

Temsch EM, Temsch W, Ehrendorfer-Schratt L *et al*, 2010. Heavy metal pollution, selection, and genome size: the species of the Žerjav study revisited with flow cytometry [J]. *Journal of Botany*, **2010**: 1—11

Tian XM (田新民), Zou XY (周香艳), Gong N (弓娜), 2011. Applications of flow cytometry in plant research——analysis of nuclear DNA content and ploidy level in plant cells [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), **27** (9): 21—27

Walker DJ, Moñino I, Correal E, 2006. Genome size in *Bituminaria bituminosa* (L.) C. H. Stirton (Fabaceae) populations: separation of "true" differences from environmental effects on DNA determination [J]. *Environmental and Experimental Botany*, **55** (3): 258—265

Wong C, Murray BG, 2012. Variable changes in genome size associated with different polyploid events in *Plantago* (Plantaginaceae) [J]. *Journal of Heredity*, **103** (5): 711—719